

Tumour stroma in cervical cancer, novel prognostic parameters

Citation for published version (APA):

Bremer, G. L. (1995). *Tumour stroma in cervical cancer, novel prognostic parameters*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19951208gb>

Document status and date:

Published: 01/01/1995

DOI:

[10.26481/dis.19951208gb](https://doi.org/10.26481/dis.19951208gb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Chapter 11

Summary and conclusions

11.1 Summary

This thesis deals with therapeutic results and prognostic parameters in cancer of the uterine cervix.

In Chapter 1 introductory remarks on epidemiology, etiology, classification, pathways of spread, pathology and treatment of cervical cancer are made. In the Netherlands the incidence and mortality rate are respectively 9.5 and 3.3 per 100,000 women. Many risk factors for cervical cancer have been investigated extensively, however, relatively little is known about the exact cause. Infection with human papillomavirus (HPV) is associated with the development of cervical cancer and probably with a rapid progression of the tumour.

The regular modalities for primary treatment are surgery, radiotherapy and a combination of both. Radiotherapy can be used in all stages of disease whereas surgery is limited to patients with stage I and IIA. Chemo and immunotherapy are used in a palliative or experimental setting only.

In Chapter 2 the literature regarding clinical and histopathological factors related to prognosis is reviewed. In cervical cancer, identification of prognostic factors is necessary in order to select patients at risk for recurrent disease. Many studies concerning this subject have been published, however, conclusions are mainly based on retrospective studies and single factor analysis only. Pelvic lymph node metastasis has been recognized for a long time to be the strongest predictor of recurrent disease and death. In addition, tumour size, lymph vascular space invasion, histological cell type and grade and depth of stromal invasion have all been shown to be associated to some extent with survival. Most of these variables, however, are probably interrelated with pelvic lymph node metastasis and the relative prognostic importance is difficult to determine without multivariate analysis. Only a few studies using multivariate analysis have been published.

Consequently, little is known on the mechanisms leading to metastasis and recurrent disease. In clinical management it still has to be established whether aggressive additional therapy benefits in patients at risk for recurrent disease.

Chapter 3 reviews several factors initiating and promoting the development of normal cells to cancer cells. Special reference to the development of cervical cancer and interactions between cancer cells and the surrounding tumour stroma is made. The tumour stroma can be divided into the basement membrane forming the first barrier for invading tumour cells and the interstitial connective tissue. This connective tissue supports and nourishes the tumour cells. Furthermore, the growth of new blood vessels toward and within a tumour is mandatory for the process of tumour expansion. Moreover, it has been proposed that the tumour stroma forms a barrier around the tumour cells inhibiting invasion and metastasis. It is concluded that the tumour stroma plays an important role in tumour invasion and metastasis.

The aim of this thesis is outlined in Chapter 4. The studies described in this thesis are based on the clinical and histopathological profiles of 205 patients with cervical cancer who were admitted to the University Hospital Maastricht between 1978 and 1993. Some aspects of the tumour stroma in cervical cancer are analyzed and the prognostic value of several stromal parameters is investigated and described in the remaining chapters.

In Chapter 5 the therapy and survival of patients with Figo stage IB and IIA treated in the period between 1978 and 1991 are described. In the University Hospital of Maastricht, early stage cervical cancer patients are initially treated with radical surgery. This procedure according to Wertheim-Meigs is abandoned when pelvic lymph node involvement is present. Ninety-nine patients with cervical cancer stage IB and IIA are included in this study. Of these, 86 patients were initially treated surgically and 13 patients with primary radiotherapy. Five year disease free survival rate of the entire group of patients was 81%. Five year disease free survival rate for patients with negative pelvic lymph nodes was 88% compared to 61% when pelvic lymph node involvement was present. Severe complications of the urinary and gastrointestinal tract were found in 6%. It is concluded that the presented therapeutic strategy shows survival and complication rates comparable to those reported in the literature.

Basement membranes (BM) are complex extracellular matrix structures, separating epithelium from the underlying stroma.

In Chapter 6 basement membrane deposition, expressed as type IV collagen immunostaining at the interface of tumour cells and stroma was studied in 156 patients with cervical cancer stage IB-IV. Staining patterns were assessed semi-quantitatively and divided into three patterns, according to intensity and continuity of staining: thick basement membranes with minimal discontinuity (pattern I), thin basement membranes with moderate discontinuity (pattern II) and fragmentary or absent basement membranes (pattern III).

A fragmentary or absent basement membrane, pattern III, was more frequently observed in advanced cervical cancer stage IIB-IV ($p=0.02$). In patients with early cervical cancer stage IB-IIA this pattern was associated with the presence of pelvic lymph node metastasis ($p<0.0001$) and associated significantly with a decreased disease free survival rate ($p=0.05$). In advanced stage disease basement membrane pattern did not correlate to prognosis.

It is concluded that in patients with early stage cervical cancer the basement membrane pattern, expressed as the type IV collagen staining pattern, may be a useful marker in predicting lymph node metastasis and disease free survival.

In all types of cancer, tumour stroma is observed in between the malignant epithelial cell proliferation. Experimental evidence suggests that an abundant tumour stroma has an anti-invasive effect. In Chapter 7 a novel prognostic parameter is introduced. The relative volume of the tumour stroma, expressed as the tumour stroma fraction was determined morphometrically and correlated with disease free survival in 114 patients with cervical cancer stage IB and IIA using multivariate analysis. The tumour stroma fraction showed to be a significant and independent prognostic parameter in patients with early cervical cancer ($p=0.004$). The relative mortality risk increased 50 percent with every 10 percent decrease of the tumour stroma fraction. This study supports the hypothesis that an abundant stroma reaction in human cancer has an anti-invasive effect.

In addition, in patients with cervical cancer stage IB and IIA the tumour stroma fraction proved to be a novel and strong parameter determining survival probability.

Angiogenesis is the growth of new blood vessels toward and within a tumour. In Chapter 8 tumour angiogenesis, expressed as microvessel density (vessels per millimeters squared stroma), was investigated in 114 patients with cervical cancer stage IB and IIA and correlated to pelvic lymph node metastasis and disease free survival using multivariate analysis. There was a significant difference in mean microvessel density between tumours with and without pelvic lymph node metastasis ($p=0.002$). In addition, both microvessel density ($P=0.05$) and pelvic lymph node metastasis ($P=0.007$) correlated significantly and independently with disease free survival.

It is concluded that microvessel density is an independent prognostic parameter for disease free survival in patients with cervical cancer stage IB and IIA.

Identification of clinical and histological parameters present at initial presentation of patients with early cervical cancer indicating prognosis is of the utmost importance. Unfortunately, the majority of the risk factors known to be associated with an adverse prognosis are rather weak predictors of outcome and the majority of them are derived from studies using univariate analysis only.

In Chapter 9 clinical and histopathological parameters were correlated to pelvic lymph node metastasis and disease free survival using multivariate analysis. Basement membrane pattern, microvessel density and lymphocytic infiltration in between the tumour cells were found to predict independently the involvement of the pelvic lymph nodes. Of all parameters, only tumour stroma fraction and microvessel density showed to have an independent influence upon disease free survival whereas surprisingly pelvic lymph node involvement was not.

11.2 Conclusions

In order to select patients with cervical cancer at risk for recurrent disease after initial therapy additional parameters predicting prognosis are essential.

To be useful clinically, a prognostic parameter should provide information on the course of the disease and defines a small subset of patients accounting for the majority of relapses.

The investigations described in this thesis revealed a correlation between some histopathological features of the tumour and both pelvic lymph node involvement and disease free survival. A fragmentary or absent basement membrane, a high angiogenic rate and the absence of lymphocytic infiltration in between the tumour cells are all independent predictors of pelvic lymph node involvement. Although one should be cautious in translating these data to the biological phenomenon of metastasis, these results nevertheless support the hypothesis that tumour cells may gain more access to the circulation after the tumour has eroded the basement membrane, the natural barrier between the tumour cells and the stromal compartment.

With regard to the amount of angiogenesis, a tumour with high angiogenic activity has a better supply of nutrients and therefore its ability to grow. In addition, the change of entering lymphatic or blood vessels is increased.

Both the destruction of the basement membrane and the ability to reach the circulation are important steps in the process of metastasis.

The role of lymphocytes in between the tumour cells in this process is unclear. A strong cellular reaction usually indicates a host defense against the tumour and this is in agreement with the independent correlation between the absence of lymphocytes in between the tumour cells and pelvic lymph node involvement.

In this study disease free survival was independently correlated with tumour stroma fraction and microvessel density. A tumour with a low tumour stroma fraction has a relatively high tumour cell load in contrast to tumours with a high tumour stroma fraction. In addition, an abundant stromal reaction has an anti-invasive effect. This tumour cell load and the low stromal defense response can be an explanation for the poor prognosis of patients with a low tumour stroma fraction.

Although many research has been focussed on tumour cell characteristics, interactions between tumour cells and the host are important in understanding biological behaviour of cancer. The results presented in this thesis stress this importance.

Understanding the biological phenomena associated with lymph node metastasis and survival in patients with cervical cancer could improve patient management. This thesis reveals some novel parameters which could be helpful in identifying a subset of patients who could benefit from additional aggressive therapy such as chemotherapy and immunotherapy.

These parameters are promising for this goal and warrant further investigations. Its clinical usefulness remains to be determined initially by studying them in another independent study group and subsequently in a prospective clinical trial.

Chapter 12

Samenvatting en conclusies

12.1 Samenvatting

Dit proefschrift handelt over baarmoederhalskanker.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding over baarmoederhalskanker. Achtereenvolgens worden in het kort de epidemiologie, de mogelijke oorzaken, de indeling, de wijze van uitzaaiing, de pathologie en de behandeling besproken. In Nederland doen zich jaarlijks 9,5 nieuwe gevallen per 100.000 vrouwen voor en sterven 3,3 patiënten per 100.000 vrouwen aan deze ziekte.

Een groot aantal factoren die mogelijk een oorzakelijk verband met baarmoederhalskanker hebben zijn onderzocht, echter een eenduidige oorzaak is niet bekend. Een infectie met het humane papillomavirus wordt sterk met baarmoederhalskanker in verband gebracht en met name met een snelle progressie van de ziekte.

Patiënten met baarmoederhalskanker kunnen zowel primair chirurgisch, primair radiotherapeutisch als met een combinatie van beide methoden worden behandeld.

Bestraling kan in alle stadia van de ziekte worden toegepast terwijl alleen patiënten in stadium I of IIA chirurgisch worden behandeld. Behandeling met celremmende middelen en met stoffen die de afweer versterken wordt alleen toegepast indien genezing niet meer mogelijk is of als experimentele geneeskunde.

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van de literatuur betreffende klinische en histopathologische parameters die mogelijk een voorspellende waarde hebben ten aanzien van de prognose van een patiënt met baarmoederhalskanker. De identificatie van deze parameters is van belang om patiënten met een verhoogde kans op tumorrecidief vroegtijdig op te sporen. Vele studies zijn beschreven, echter de meeste onderzoeken zijn retrospectief en maken gebruik van univariate analyses.

Metastasering van tumor naar de lymfeklieren in het kleine bekken is een prognostische parameter met een goede voorspellende waarde. Daarnaast zijn tumorgrootte, lymfe en bloedvat ingroei, celtype, gradering en diepte ingroei in

het stroma van de baarmoederhals van prognostisch belang. Een aantal van deze parameters zijn echter ook geassocieerd met lymfeklier metastasering zodat zonder multivariaat analyse hun eigen prognostische waarde moeilijk is vast te stellen. Slechts een gering aantal studies maken gebruik van multivariaat analyse.

Om de prognose te verbeteren zal daarnaast moeten worden vastgesteld of patiënten met een verhoogde kans op tumorrecidief baat hebben bij een agressieve adjuvante behandeling.

In **Hoofdstuk 3** worden verschillende factoren beschreven die bijdragen aan de transformatie van normale cellen tot tumorcellen en die de uitbreiding van een tumor stimuleren.

Speciale aandacht wordt besteed aan de ontwikkeling van baarmoederhalskanker en de interacties tussen tumorcellen en omliggend tumorstroma. Het tumorstroma kan worden onderverdeeld in de basale membraan, de eerste barrière voor invasieve tumorcellen, en het interstitiële bindweefsel.

Dit bindweefsel geeft steun en voeding aan de tumorcellen. Tevens is voor progressie van tumor de groei van nieuwe bloedvaten in de tumor noodzakelijk. Daarnaast wordt verondersteld dat het tumorstroma een barrière tegen invasie en metastasering door tumorcellen vormt. Al deze gegevens tonen aan dat het tumorstroma een belangrijke rol speelt bij de invasie en metastasering van tumorcellen.

De doelstellingen van het onderzoek worden geformuleerd in **Hoofdstuk 4**. De studies beschreven in dit proefschrift zijn verricht met zowel de klinische gegevens als het tumorweefsel van 205 patiënten met baarmoederhalskanker die vanaf 1978 tot 1993 werden verwezen naar het Academisch Ziekenhuis Maastricht. Een aantal aspecten van het tumorstroma in baarmoederhalskanker werden bestudeerd en de voorspellende waarde ten aanzien van de prognose werd onderzocht en beschreven in de volgende hoofdstukken.

Hoofdstuk 5 beschrijft de therapieresultaten van patiënten met baarmoederhalskanker FIGO stadium IB en IIA die vanaf 1978 tot 1991 werden behandeld. In het Academisch Ziekenhuis Maastricht worden patiënten met baarmoederhalskanker FIGO stadium IB en IIA primair chirurgisch behandeld. De operatie volgens Wertheim-Meigs wordt gestopt wanneer tijdens de procedure lymfeklier metastasering in de vriescoupes wordt gevonden.

Negenennegentig patiënten zijn in de studie opgenomen: 86 patiënten werden primair chirurgisch en 13 patiënten werden primair met bestraling behandeld. De vijfjaars ziektevrije overleving bedroeg 81% voor de gehele patiëntengroep, onderverdeeld in 88% voor de patiëntengroep met negatieve lymfeklieren en 61% voor de patiëntengroep met lymfekliermetastasering. In 6% van de patiënten traden complicaties van urinewegen en darmen op.

De gepresenteerde behandelingswijze vertoont vergelijkbare resultaten met de onderzoeken beschreven in de literatuur.

Basale membranen (BM) zijn complexe structuren gelegen in de extracellulaire matrix die epitheel en onderliggend stroma van elkaar scheiden.

In **Hoofdstuk 6** wordt de BM depositie op het grensvlak van tumor en stroma in 156 carcinomen van de baarmoederhals FIGO stadium IB-IV onderzocht. Met antilichamen tegen collageen type IV werden de BM immunohistochemisch gevisualiseerd. De immunoreactiviteit werd semikwantitatief gescoord en verdeeld in drie typen gebaseerd op intensiteit en continuïteit van kleuring: type I; een dikke basale membraan met minimale discontinuïteit, type II; een dunne basale membraan met matige discontinuïteit en type III; een gefragmenteerde of afwezige basale membraan.

Een gefragmenteerde of afwezige basale membraan (type III) werd frequenter gezien in het gevorderde carcinoom van de baarmoederhals (stadium IB-IV) ($p=0,02$).

Basale membraan type III was in het vroege carcinoom van de baarmoederhals (stadium IB-IIA) significant gecorreleerd met zowel lymfekliermetastasering in het kleine bekken ($p<0,0001$) als een kortere ziektevrije overleving ($p=0,05$). In het gevorderde carcinoom bestond er geen correlatie met ziektevrije overleving. We concluderen dat in het vroege stadium van baarmoederhals kanker het basale membraan type, aangetoond met antilichamen tegen collageen type IV, een bruikbare parameter kan zijn ter voorspelling van lymfekliermetastasering en ziektevrije overleving.

Tumorstroma kan in alle type carcinomen tussen de epiteliale cel proliferaties worden gevonden. Onderzoekgegevens suggereren dat een sterke stromale reactie een invasie remmend effect heeft. In **Hoofdstuk 7** wordt een nieuwe prognostische parameter geïntroduceerd.

Het relatieve tumorstromavolume (de tumor stroma fractie) werd morfometrisch bepaald bij 114 patiënten met baarmoederhals kanker stadium IB en IIA en in een multivariaat analyse gecorreleerd met ziektevrije overleving.

De tumor stroma fractie was een significante en onafhankelijke prognostische parameter in het vroege carcinoom van de baarmoederhals ($p=0,004$). Bij elke vermindering van de tumor stroma fractie met 10% steeg de relatieve sterftekans met 50%.

Deze studie ondersteunt de hypothese dat een sterke stromale reactie een invasie remmend effect heeft. Tevens bewijst de tumor stroma fractie een nieuwe en sterke prognostische parameter te zijn in het carcinoom van de baarmoederhals stadium IB en IIA.

Vatnieuwvorming (angiogenese) betreft de groei van nieuwe bloedvaten naar en in een tumor. In **Hoofdstuk 8** wordt tumorangiogenese, gedefinieerd als

microvatdichtheid (vaten per vierkante millimeter stroma oppervlak) onderzocht in 114 carcinomen van de baarmoederhals stadium IB en IIA. De resultaten worden in een multivariaat analyse gecorreleerd met lymfeklier metastasering en ziektevrije overleving.

Er werd een significant verschil in gemiddelde microvatdichtheid tussen carcinomen met en zonder lymfeklier metastasering gevonden ($p=0,002$). Tevens waren zowel microvatdichtheid ($p=0,05$) als lymfekliermetastasering ($p=0,007$) significant en onafhankelijk gecorreleerd met ziektevrije overleving.

Derhalve kan microvatdichtheid worden beschouwd als een onafhankelijke prognostische parameter in baarmoederhalskanker stadium IB en IIA.

Het is van groot belang om klinische en histopathologische parameters te identificeren die in een vroeg stadium van baarmoederhalskanker prognostische betekenis hebben. Helaas hebben veel van deze parameters slechts een geringe voorspellende waarde ten aanzien van de prognose en veelal zijn zij bestudeerd in een univariaat analyse.

In **Hoofdstuk 9** worden klinische en histopathologische parameters gecorreleerd met lymfekliermetastasering in het kleine bekken en ziektevrije overleving.

Van alle parameters voorspelden alleen basale membraan type, microvatdichtheid en infiltratie van lymfocyten tussen de tumorcellen het optreden van lymfekliermetastasering. Twee parameters (tumor stroma fractie en microvatdichtheid) waren onafhankelijk gecorreleerd met ziekte vrije overleving en verrassenderwijs toonde lymfekliermetastasering hier geen correlatie mee.

12.2 Conclusies

Patiënten met baarmoederhalskanker en een verhoogde kans op tumorrecidief na initiële behandeling kunnen met de hulp van prognostische parameters geselecteerd worden. Om deze parameters klinisch te kunnen gebruiken moet het ziektebeloop in hoge mate worden voorspeld zodat de patiënten met een zeer grote kans op tumorrecidief worden geïdentificeerd.

De resultaten beschreven in dit proefschrift tonen een correlatie tussen een aantal histopathologische tumorkenmerken en lymfekliermetastasering in het kleine bekken. Bovendien wordt een correlatie gevonden tussen een aantal histopathologische tumorkenmerken en ziekte vrije overleving.

Een gefragmenteerde of afwezige basale membraan, een hoge mate van angiogenese en de afwezigheid van lymfocyten tussen tumorcellen voorspellen allen in hoge mate het optreden van lymfeklier metastasering. Hoewel men voorzichtig moet zijn met de interpretatie van deze gegevens ondersteunen de resultaten de hypothese dat tumorcellen sneller de bloedbaan bereiken als de barrière tussen epitheel en stroma (de basale membraan) is vernietigd. Daarnaast wordt een tumor met veel vatnieuwvorming goed voorzien van voedingsstoffen

en krijgt daarmee een grote groeipotentie. Tevens wordt de kans op ingroei in lymfe en bloedvaten vergroot.

Zowel de vernietiging van de basale membraan als de wijze waarop de lymfe en bloedbaan bereikt kan worden zijn belangrijke stappen in het proces dat leidt tot metastasering.

De rol die de infiltratie van lymfocyten in dit proces spelen is niet geheel duidelijk. Een heftige cellulaire immuunreactie weerspiegelt meestal een sterke mate van afweer en dit komt overeen met het onderzoeksgegeven dat de afwezigheid van lymfocyten en lymfekliermetastasering met elkaar samen hangen.

Ziektevrije overleving is in deze studie onafhankelijk gecorreleerd met tumorstromafractie en microvatdichtheid.

Een carcinoom met een lage tumorstromafractie bevat een relatief grote hoeveelheid tumorcellen in vergelijking met een carcinoom met hoge tumorstromafractie. Daarnaast heeft een heftige stromale reactie een invasie remmend effect. Beide factoren kunnen een verklaring zijn voor de slechtere prognose van patiënten met carcinomen met een lage tumorstromafractie.

Naast het vele onderzoek dat verricht is naar tumorcelkenmerken is ook de interactie tussen tumorcellen en gastheer van belang voor de kennis over het biologisch gedrag van een tumor. De resultaten van dit onderzoek benadrukken nogmaals het belang van deze interactie. Kennis van de biologische processen die van belang zijn voor metastasering en prognose kunnen het klinisch beleid beïnvloeden.

Dit proefschrift toont een aantal nieuwe parameters die behulpzaam kunnen zijn bij het selecteren van patiënten met een verhoogde kans op tumorrecidief. Wellicht hebben deze patiënten baat bij een agressievere behandeling zoals chemo of immunotherapie. Deze prognostische parameters zijn veelbelovend en rechtvaardigen verder onderzoek. De klinische waarde zal in een onafhankelijke onderzoeksgroep nogmaals moeten worden onderzocht en vervolgens in een prospectieve studie.

